

Title	Oscillatory expression of Hes1 regulates cell proliferation and neuronal differentiation in the embryonic brain(Abstract_要旨)
Author(s)	Ochi, Shohei
Citation	Kyoto University (京都大学)
Issue Date	2020-05-25
URL	https://doi.org/10.14989/doctor.k22639
Right	
Type	Thesis or Dissertation
Textversion	ETD

京都大学	博士（ 医学 ）	氏名	越智 翔平
論文題目	Oscillatory expression of Hes1 regulates cell proliferation and neuronal differentiation in the embryonic brain (Hes1 遺伝子の発現振動は胎生期の脳において細胞増殖や神経分化を制御する)		
(論文内容の要旨)			
<p>神経幹細胞の維持に重要な機能を果たす Hes1 遺伝子の発現は、神経幹細胞において 2-3 時間周期で振動している。しかしながら、神経発生過程における Hes1 遺伝子の発現振動の役割については十分に解明されていない。この問題を明らかにするために、Hes1 遺伝子の発現動態の改変を試み、神経発生に与える影響について解析した。具体的には、Hes1 遺伝子の 3 個全てのイントロンを欠損した Hes1 遺伝子短縮型 (Hes1 1 型変異体)、Hes1 遺伝子の第 1 エクソン内の 5'UTR 直後に終止コドンをも末端に伴った Hes1 cDNA を挿入した Hes1 遺伝子伸長型 (Hes1 2 型変異体) の 2 種類のノックインマウスを作製した。</p> <p>上記の 2 種の変異マウスと Hes1 レポーターマウスを掛け合わせたマウス胎仔脳から神経幹細胞を調整し、Hes1 遺伝子の発現動態を経時的に解析したところ、2 種類の変異マウスにおいて Hes1 遺伝子の発現動態が改変された。1 型変異マウスでは、Hes1 遺伝子の発現振動が急激に減衰し、振幅が小さくなっていたが、2 型変異マウスにおいては発現振動の減衰の程度が小さかった。また、2 型変異マウスでは神経発生過程において明確な表現型が認められなかったが、1 型変異マウスでは異常が見られたため、後者に着目して発現動態が改変された影響について組織学的解析を行った。</p> <p>1 型変異マウス由来の神経前駆細胞では、Hes1 遺伝子の発現レベルの平均値が野生型より低下していた。そこで発現レベルの低下が表現型に影響を与えている可能性を考慮し、Hes1 ノル変異を持つヘテロ接合型[Hes1(+/-)マウス]における Hes1 遺伝子の発現レベルを確認した。Hes1(+/-)マウスの Hes1 遺伝子の発現レベルの平均値は 1 型変異マウスとほぼ同等であったので、対照群として用いることにした。</p> <p>1 型変異マウスは野生型マウスに比べて脳のサイズが小さくなり、プロニューラル遺伝子の発現が上昇していた。加えて、1 型変異マウスでは、神経前駆細胞の増殖が抑制され、細胞死が亢進していた。一方、Hes1(+/-)マウスでは、野生型と比較して明らかな表現型は認められなかった。</p> <p>神経発生過程において Hes3 と Hes5 遺伝子は Hes1 遺伝子と同等の機能を担い、補償的に作用することが知られている。そこで、Hes5 遺伝子の相補的影響を排除するため、1 型変異マウスと Hes5 遺伝子欠損マウスを掛け合わせた二重変異マウスを作製し、神経発生に与える影響を解析したところ、神経分化が亢進していた。一方で、Hes1(+/-)かつ Hes5 欠損マウスでは、明らかな表現型が認められなかった。また、1 型変異マウスに Hes3 遺伝子と Hes5 遺伝子を欠失させた三重変異マウスの場合、神経分化がさらに亢進され小頭症様の形態が認められた。</p> <p>以上の結果から、Hes1 遺伝子の安定な発現振動は、神経前駆細胞の増殖や神経分化のタイミング制御に必要であり、正常な脳の形態形成に重要であることが明らかになった。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

神経発生に重要な役割を担う転写因子 Hes1 の発現は神経前駆細胞において 2～3 時間周期で振動するが、発現振動の意義については不明の点が多い。この問題を明らかにするために、Hes1 遺伝子の発現動態の改変を試みた。Hes1 の発現振動は適度なタイミングで働くネガティブフィードバックに依存することから、Hes1 の発現のタイミングを変えるために、Hes1 遺伝子短縮型 (1 型変異体) と伸長型 (2 型変異体) の 2 種類のノックインマウスを作製した。Hes1 遺伝子の発現動態を解析したところ、1 型変異体で Hes1 遺伝子の発現振動がより減衰していた。脳組織を解析したところ、2 型変異マウスでは明らかな異常は認められなかったが、1 型変異マウスでは野生型マウスに比べて神経前駆細胞の増殖が抑制され、脳のサイズが小さくなっていた。ただ、この異常は比較的軽微なため、Hes1 の機能が Hes3 と Hes5 によって代償されている可能性が示唆された。そこで、Hes3 と Hes5 による機能代償を除いて解析したところ、Hes3;Hes5 遺伝子欠損マウスはほぼ正常であるのに対し、Hes3;Hes5 遺伝子欠損に 1 型変異が入ると神経前駆細胞の増殖抑制や神経分化促進が増強し、顕著な小頭症が認められた。したがって、神経前駆細胞の増殖や正常な神経分化には Hes1 の発現振動が重要であることが示された。

以上の研究は、神経前駆細胞における発現振動の意義の解明に貢献し、発生生物学研究の発展に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（ 医学 ）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、令和 2 年 3 月 1 2 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。